Istituto d' anatomia patologica della R. Università di Napoli
(diretto dal Prof. O. von Schrön)

SULLA
NATURA DE' CORPI CANCEROSI

SECONDA NOTA

DEL

Dottor G. PIANESE
Preparatore

Estratto dal *Giornale Intern. delle Scienze Mediche* – Anno XVII.

NAPOLI
LIBRERIA DETKEN & ROCHOLL
Piazza Plebiscito
1895

All'Ill.mo Prof. Foà – Omaggio

Istituto d' anatomia patologica della R. Università di Napoli
(diretto dal Prof. O. von Schrön)

SULLA
NATURA DE' CORPI CANCEROSI

SECONDA NOTA

DEL

Dottor G. PIANESE
Preparatore

Estratto dal *Giornale Intern. delle Scienze Mediche* – Anno XVII.

NAPOLI
LIBRERIA DETKEN & ROCHOLL
Piazza Plebiscito
1895

La lotta tra i fautori e gli oppositori della natura parassitaria dei *corpi cancerosi* di Foà, Soudakewitch, Ruffer ecc. parrebbe volesse oggi risolversi con la vittoria completa de'primi, per le ricerche di Sanfelice, Maffucci e Sirleo, e Roncali.

Poichè, mentre da una parte, nel campo sperimentale, Maffucci e Sirleo dal polmone di una cavia, sono riesciti ad isolare un blastomicete (*saccaromyces niger*) capace di provocare neoproduzioni epiteliali di indole cronica, i cui prodotti emigrano da un punto all'altro dell'organismo lungo le vie linfatiche; e Sanfelice, dal succo de' limoni e aranci è riescito ad isolare un altro blastomicete, diverso però da quello di Maffucci e Sirleo, capace, inoculato nelle mammelle di una cagna, di provocare *in loco* delle neoformazioni cellulari con disposizione degli elementi tale da ricordare quella che si osserva ne'carcinomi, e metastasi ne'reni, nella milza e negli intestini; dall'altra parte, nel campo istologico, Roncali, studiando un adeno-carcinoma ovarico, sarebbe riescito a dimostrare che i corpi cancerosi non sono de' coccidii ma de' blastomiceti, perchè i corpi cancerosi di Foà, Soudakewitch, Ruffer ecc. somigliano a quelli da lui riscontrati e questi suoi somigliano ai blastomiceti di Sanfelice.

In questo stato di cose, poichè un mio lavoro sul carcinoma, (nel quale io dimostro — o, meglio, spero di dimostrare — la natura non parassitaria de'corpi cancerosi) quantunque ultimato fin dal febbraio decorso, per le otto grosse tavole che l'accompagnano non potrà vedere la luce, su'*Beiträge* di Ziegler, che verso la fine di luglio; e poichè, nel suo ultimo lavoro, Sanfelice espone de' metodi di colorazione, secondo lui, specifici de' blastomiceti ed io nelle mie ricerche uso di speciali metodi di colorazione, secondo me, specifici per i corpi cancerosi, credo sia utile, senza aspettare la pubblicazione del lavoro in esteso, di comunicare per ora, almeno i metodi di fissazione e colorazione da me usati, e le conclusioni di quella parte delle mie ricerche che riguardano i cosiddetti *corpi cancerosi* di Ruffer.

E a pubblicare i miei metodi io sono indotto principalmente dal desiderio che Sanfelice, Maffucci e Sirleo li sperimentino co' loro blastomiceti, come io li ho sperimentato con un blastomicete ottenuto su speciale mezzo culturale da due epiteliomi glandulari, tanto per assicurarsi se mai — come a me è capitato — cotesti blastomiceti non reagiscano diversamente dai corpi cancerosi ed appaiano, fissati e colorati co' miei metodi, cose, per intima struttura, ben diverse l'una dall'altra.

*
* *

Ed ora, ecco i metodi :

1. *Metodo di fissazione.*

Soluz. acq. all' 1 0[0 di cloroplatinato di soda	c. c.	15
Soluz. acq. al 0.25 0[0 di acido cromico	c. c.	5
Soluz. acq. al 2 0[0 di acido iperosmico	c. c.	5
Acido formico purissimo	goccia	1

Piccoli pezzi, appena di poco più grossi di quello che si usa col liquido di Flemming, si tengono in questa miscela per 36 ore: dopo, lavaggio sotto acqua corrente per 12 ore; poi serie degli alcools; trementina; paraffina. Nella trementina i pezzi

perdono colore, e la tingono in gialliccio, onde va cambiata più volte.

I tagli poi di pezzi così fissati, liberati dalla paraffina, si colorano con i seguenti miei speciali

2. *Metodi di colorazione.*

Ne uso quattro.

a) Il primo, ha due formole, a secondo che si voglia mettere in evidenza soltanto le figure cariocinetiche tipiche e atipiche, o colorare tutti gli elementi del tessuto (nuclei, protoplasma, corpi cancerosi ecc. ecc.).

Nel primo caso, la formula è la seguente:

Verde malachite	*gr. 1.00*
Fuxina acida	*centigr. 0.40*
Nigrosina	*centigr. 0.10*
Acqua distillata	*c. c. 50*
Sol. alcool sat. di acetato di rame	*c. c. 50*

20 gocce di questa soluzione si allungano con 10 c. c. di acqua distillata, e vi si mettono dentro i tagli, completamente disidratati, per 24 ore. Dopo si scolorano in una soluzione acquosa al mezzo per cento di acido ossalico, si sciacquano in acqua, si disidratano nella serie degli alcools, e si montano in balsamo xilolico.

In preparati fatti con questo metodo mentre che tutti i nuclei delle cellule in riposo restano leggermente colorati in rosso e il protoplasma in rosso giallastro, le sole figure cariocinetiche — tipiche e atipiche — restano colorate anche dal verde malachite, e propriamente così: la sostanza cromatica o nucleina (fuso cromatico, piastra e quatoriale ecc.), in verde; la sostanza acromatica, o paranucleina (fuso acromatico, corpuscoli polari, corpi intercalari), in rosso-bluastro, e il protoplasma cellulare, in rosso mattone.

Nel secondo caso, poi, la formola è la seguente:

Verde malachite	*centigr. 50*
Fuxina acida	» *10*

Giallo Marzius	*centigr. 1*
Acqua distillata	*c. c. 150*
Alcool a 96	*c. c. 50*

La soluzione si adopera senza allungarla con altra acqua; e i tagli vi si tengono per mezz'ora. Poi, senza passarli per la soluzione di acido ossalico, si disidratano in alcool assoluto e si montano in balsamo.

In preparati eseguiti con questo metodo, i nuclei delle cellule in riposo o in divisione (diretta o indiretta) si colorano in verde; il protoplasma cellulare, il connettivo ecc. in roseo; e i corpi cancerosi fondamentalmente in rosso, ma con entro de'blocchi di sostanza ora colorata in rosso rubino, ora in verde brillante, ed elegantemente disposti, ora circolarmente, ora radialmente attorno a de'blocchi centrali di sostanza similmente colorata in rosso intenso o in verde brillante; o sotto altre forme più o meno regolari e simmetriche, che qui troppo lungo sarebbe descrivere.

b) Fuxina acida e picronigrosina.

Sol. alcool. sat. di fuxina acida	*goc. 6*
Picronigrosina di Martinotti	*goc. 8*
Acqua distillata	*c. c. 10*

I tagli vi si passano dall'alcool a 70, e vi hanno a restare 6 ore. Dopo: scoloramento in acqua acetica, disidratamento nella serie degli alcools, chiarificazione in olio di bergamotto, ecc.

Con questo metodo, i nuclei delle cellule in riposo si colorano in rosso; la nucleina delle cellule in cariocinesi, in giallo; il protoplasma cellurare, in verde oliva carico; e i corpi cancerosi, fondamentalmente in verde oliva grigiastro, e i blocchi di sostanza periferici, centrali o radiali, in rosso rubino.

c) Verde luce ed ematossilina.

Ematossilina acida di Ehrlich	*c. c. 15*
Sol. sat. di Verde luce in alcool a 70	*c. c. 5*
Acqua distillata	*c. c. 15*

I tagli vi si passano dall'acqua distillata, e vi si tengono

mezz'ora. Dopo, lavaggio accurato in acqua distillata, serie degli alcools, olio di garofani o di bergamotto, ecc.

Con questo metodo i nuclei si colorano in verde, e i corpi cancerosi hanno la reazione ematossilinica.

d) Fuxina acida ed ematossilina.

Ematossilina acida di Ehrlich	*c. c. 15*
Sol. di fuxina acida all'1 0/0 in alcool a 70	*c. c. 15*
Acqua distillata	*c. c. 15*

La tecnica è identica alla precedente.

In preparati con questo metodo i nuclei si colorano in rosso, il protoplasma in rosso mattone, ed i corpi cancerosi danno la reazione ematossilinica.

Questi i metodi.

*
* *

Ora due parole sui corpi cancerosi di Sjöbring, Foà, Soudakewitch, Ruffer ecc.

Nel mio lavoro per esteso ho diviso tutte le ricerche fatte per iscovrire l'agente patogeno del Carcinoma in tre grandi periodi:

1º degli *Schizomiceti* (da Rappin e Scheuerlen a Koubassoff).

2º dei *Protozoi* (da Albarran ad oggi).

3º dei *Blastomiceti* (da Russel ad oggi).

Tralascio in questa nota gli Schizomiceti, perchè oggi anche i più caldi fautori della natura parassitaria del cancro rifuggono dal supporre uno schizomicete come agente patogeno del cancro: dei blastomiceti ho detto qualche cosa innanzi: dirò brevemente dei protozoi.

Di protozoi, parassiti del cancro, Fabre-Demorgue fa cinque tipi, cioè: 1. coccidi di Darier, 2. di Albarran, 3. di Russell, 4. di Pfeiffer e 5. di Thoma-Sjöbring.

Però questa classifica a me pare inesatta ed insufficiente; inesatta perchè Russell ha parlato, nel suo lavoro, di blastomiceti e non di coccidi; insufficiente, perchè nuovi lavori hanno portati nuovi parassiti. Onde, per me, i protozoi, parassiti del cancro, finora descritti, vanno raggruppati così:

1. *Coccidio* di Darier
2. *Coccidio* di Albarran
3. *Coccidio* di Sjöbring - Foà — Ruffer
4. *Gregarina monocistidea* (Rpopalocephalus canceramatosus) di Korotneff e Kurloff
5. *Ameba-sporidio* di Pfeiffer di Weimar; e *Sarcolito* di Adamkiewicz.
6. *Ematozoario* di Kahane
7. *Istozoario*, e ameba, di Nepveau.

Io qui non dico che del 3. tipo, quello di Foà, Soudakewitch, Ruffer ecc.

Non credo necessario descrivere qui questo presunto parassita, poichè oramai non vi è più alcuno, che si occupi dell'argomento, il quale non l'abbia riscontrato.

Credo però utile fare orservare, per quello che dovrò dire in seguito, che fra i diversi sostenitori della natura parassitaria de' corpi di Sjöbring non regna il migliore accordo: poiché se essi non discordano sostenzialmente nella descrizione della loro forma e della loro struttura, discordano però parecchio intorno alla loro localizzazione ed al loro modo di moltiplicazione.

Poichè mentre per Foà, Ruffer, Soudakewitch i parassiti sono esclusivamente intracellulari, per Podwissowschy e Sawschenko sono anco extracellulari mentre per Foà sono sempre intraprotoplasmatici, per Sjöbring, Thoma e Ruffer possono essere anche intranucleari; e mentre per Foà si riprodurrebbero per spore, per Ruffer si moltiplicherebbero per divisione diretta; e mentre per Ruffer, Plimmer e Foà non esisterebbero ne' punti ove esiste cospicua degenerazione, per Roncali — quantunque questi corpi creda blastomiceti e non coccidi — in questi se ne riscontrerebbero, e molti; e mentre per Ruffer, Plimmer, Walker non si incontrerebbero mai in cellule in mitosi, per Steinhaus (quantunque questo autore sia contrario alla loro natura parassitaria) vi si troverebbero non raramente.

Ora, secondo me, questa discrepanza di opinioni fra i diversi autori,—per quel che dirò — è tutt'altro che lieve, e dipende da due cause diverse: una, direi, estrinseca, e l'altra intrin-

seca: e la prima è dovuta a' metodi diversi da' diversi autori usati, dei quali alcuni mettono in evidenza certe particolarità e altri, altre; e la seconda dal descrivere cose per natura, e per origine loro ben diverse.

Quanto ai metodi, per dire solo de' principali, ricorderò che Foà fissa in liquido di Hermann, o in liquido di Müller con sublimato, e colora con la sua miscela di safranina e ematossilina; Ruffer fissa in liquido di Flemming e colora con liquido di Biondi; e Roncali fissa in liquido di Müller e colora con carminio e liquido di Erhlich, scolorando con acido ossalico (metodo di Sanfelice).

Orbene l'ematossilina mette in evidenza, principalmente, la sostanza mucosa, e una sostanza tra la mucosa e la colloidea, che io dico pseudocolloidea; la fuxina acida mette in evidenza, principalmente, la sostanza ialina; il verde metile, la sostanza colloidea e anche la mucosa; mentre che il violetto di genziana, reagisce poco o niente, con queste sostanze, ma mette in evidenza principalmente tutte le alterazioni che avvengono nel nucleo (ipercromatolisi, cariolisi, cariorexi, metacromasia, ecc.)

Poichè i presunti parassiti del gruppo Thoma-Sjöbring vanno distinti in due classi, differenti per intima struttura, e per genesi vera.

La prima classe comprende dei corpi, a volta rotondi, a volta ovalari, e spesso anche di forma irregolare, grandi da un corpuscolo rosso a un grosso nucleo o poco più, forniti di una membrana poco spessa, qualche volta a doppio contorno, ora vuoti, ma più spesso con un contenuto poco denso e per lo più reticolato. E questi corpi si riscontrano nel protoplasma cellulare ma anche entro i nuclei, così in cellule nucleate come in cellule senza nucleo, ordinariamente uno per cellula, mai però in numero considerevole; e non danno la reazione ematossilinica, ma trattati con la safranina o col violetto metile, non tutti, ma parecchi di essi, danno una reazione che si avvicina a quella della sostanza amiloidea e si tingono co' colori basici di anilina più intensamente che i nuclei normali delle cellule; e se mai i pezzi sieno stati fissati in sublimato

e colorati, in massa, col carminio e, a tagli, col bleù di metilene, essi si tingono in bleù e i nuclei sani in rosso.

La seconda classe comprende i corpi cancerosi propriamente detti, quasi sempre rotondi, grossi da un corpuscolo rosso fino ad una cellula cancerigna e più, ora forniti di una membrana spessa, a doppio contorno, con contenuto poco denso, a strie raggianti ecc., ora di una struttura più complicata, da farli rassomigliare ai corpi amilacei del midollo spinale, e fino a quelli della prostata. E questi corpi si riscontrano sempre nel protoplasma cellulare, in numero vario entro la stessa cellula, e il loro numero è in ragione inversa della loro grandezza; ed hanno, i più semplici, una decisa reazione ematossilinica, e quelli un pò già complicati per struttura una reazione diversa per le diverse parti che li compongono, e cioè jalina, mucosa, e colloidea, trattati con il mio primo metodo.

Ora i corpi cancerosi della prima classe traggono origine da alterazioni speciali del nucleo delle cellule (polinucleate, a nucleo gemmante, nidi cellulari per fusione di cellule ecc.); e gli altri da alterazione speciale del protoplasma delle cellule, e più propriamente della secrezione di esse.

Onde i primi possono riscontrarsi in tutti i tipi di carcinomi, e anche ne' sarcomi, mentre che quelli della seconda classe non si riscontrano che ne' soli cancri glandolari, e cioè in cancri che provengono da cellule deputate, fisiologicamente, a una qualche secrezione.

Poichè in questa specie di carcinomi così come avviene una produzione enorme, illimitata e anche atipica (cariocinesi atipica ecc.) di cellule, succede anche una enorme, illimitata e atipica produzione di materiale secregabile.

Il quale materiale, alle volte può, dalle cellule, versarsi in un lume glandulare preesistente, o in una cavità cistica neoformata e allora vi si raccoglie sotto forme stranissime da rassomigliare a pseudococcidi, (non blastomiceti) e arriva a formare dei corpi per struttura e reazione identici a'corpi prostatici; ma il più delle volte, per la mancanza di un lume glandolare, il materiale di secrezione rimane entro la cellula stessa e vi subisce tutte le metamorfosi, dalla pseudomucosa, alla mucosa, alla

jalina, alla colloidea, disponendosi sotto le più eleganti forme che si possano immaginare.

E corpi di questa specie io ho, oltre che nel cancro, riscontrato entro il protoplasma delle cellule uretrali del secreto blenorragico, in quel periodo della blenorragia nel quale la secrezione diventa siero-mucosa ; e perfino entro gli alveoli polmonali , nello stadio dello infiltramento purulento della polmonite crupale.

Ora le forme di questa seconda classe, se per la loro complicata struttura possono aver spinti diversi autori a pensare a' coccidii (quantunque la mancanza di spore , ecc. ecc. , ne li avrebbe dovuto sconsigliare) , io non so come possano identificarsi co' blastomiceti, che per intima struttura, forma, grandezza , ecc. sono cose assai differenti.

Ma, e gli esperimenti di Sanfelice, che con la inoculazione di un suo blastomicete sarebbe riescito a riprodurre il carcinoma in una cagna?

Della importanza di essi nella soluzione di quest'arduo problema della etiologia del carcinoma, è prematuro dire oggi qualche cosa di sicuro.

Francamente, però a me non pare che sia questo blastomicete l'agente patogeno del cancro, e per molte ragioni.

Poichè io non saprei spiegarmi come mai , riscontrandosi questi presunti parassiti in così gran copia ne'cancri ghiandolari, ed essendone la cultura se non facile, certamente non difficile, come quella che non richiede un metodo specialissimo, io non mi saprei spiegare, dicevo, come mai ne-suno de'moltissimi ricercatori, che da Rappin ad oggi han tentato colture dal cancro, l'abb miaai rinvenuto, e descritto.

E quando anche volessi concedere che cotesti ricercatori , forse , imbattutisi in questo fermento , preoccupati dalla idea dominante della non patogenità de'blastomiceti in genere, non abbiamo ad esso data importanza alcuna — la qual cosa non pare molto probabile — io non saprei spiegarmi come mai, se

con la cultura pura di esso si riesce a riprodurre delle neoformazioni epiteliali (e, come dirò, anche connettivali) negli animali da esperimento (cagna e pollo, principalmente), e con grande facilità; io non saprei spiegarmi, dicevo, come mai a tutti gli sperimentatori (meno forse a Hanau di Saint-Gall) sono riesciti sempre negativi gli innesti di pezzi di cancro non solo da uomo ad animale e da animale ad animale di specie differente, ma da animale ad animale della istessa specie: e tanto più che se è vero, come Sanfelice scrive, e come io ho potuto riscontrare, che cotesti blastomiceti ne' tumori sperimentali da essi provocati o non si riscontrano affatto, dopo un certo tempo, o solo in piccolo numero; è altresì verissimo che, ne'cancri ghiandolari—che sono quelli adoperati per lo più negli innesti — sempre, in qualunque periodo della loro evoluzione, e anche nelle parti degenerate (Roncali) si riscontrano in numero cospicuo i cosiddetti *corpi cancerosi*, che Sanfelice e Roncali credono blastomiceti.

Nè io credo che a rendere ragione di questo dato di fatto sia soddisfacente il supporre, che il blastomicte nei pezzi innestati si trovasse in una fase del suo sviluppo, durante la quale esso non riesce più infettante: poichè questa ragione potrebbero giustamente mettere innanzi coloro che i corpi cancerosi interpretano come coccidî, essendo note nella biologia di questi le fasi infettanti e le non infettanti, morfologicamente ben distinte l'una dall'altra (poniamo, lo stadio delle falciuole, infettante, e quello delle cisti durature, non infettante, del coccidio oviforme); ma non mai potrebbero addurre coloro che i corpi cancerosi interpretano come blastomiceti, e perchè nella biologia di questi le fasi infettanti e le non infettanti non sono dimostrate (chè la leggera differenza morfologica de' blastomiceti ne' tessuti e nelle culture nessuno vorrà interpretare come stadî diversi di essi) e perchè, principalmente, i pezzi di organi con blastomiceti, innestati, si comportano (Maffucci e Sirleo) così come le culture pure ottenute da questi organi.

Nè credo che vorrà, a questo proposito, invocarsi la degenerazione de' parassiti ne' pezzi innestati, per ispiegarne la non inoculabilità; poichè, se la più completa identità morfologica esiste tra le forme btastomicetiche delle neoplasie sperimentali

e tutte le forme descritte dagli autori come appartenenti a' coccidî nei tumori maligni dell'uomo (Sanfelice), io non saprei spiegarmi i risultati negativi degli innesti di cancro e i positivi degli innesti delle neoformazioni sperimentali blastomicetiche.

A queste ragioni si aggiunga che dalla descrizione, che l'autore fa del tumore riprodotto nella cagna, nell'animo di chi legge non sorge la convinzione che si tratti proprio di carcinoma: poichè nascono, a leggere quella descrizione, gli istessi dubbi, sulla lesione prodotta, che già sono sorti per gli esperimenti degli innesti di cancro con esito positivo praticati da Francotte e Rechter, da Firket, e da Mayet, e cioè che si tratti di neoformazioni infiammatorie, e non di veri neoplasmi, e tanto più che l'istesso blastomicete, inoculato in un barbiglio di pollo ha provocato una neoformazione, per confessione dell' istesso autore, connettivale e non epiteliale.

È da qualche tempo che anche io sono dietro a sperimentare sulle cagne con un blastomicete ottenuto, su speciale mezzo culturale, da due carcinomi ghiandolari: ed anche a me è successo di produrre, con la inoculazione di esso tumefazioni delle glandole mammarie delle cagne; tumefazioni, in sulle prime molto cospicue, ma che a poco a poco si sono andate riducendo di volume, tanto che ora, dopo quasi due mesi, tutta la glandola mammaria è di poco più grossa del normale. Entro e al disotto della glandola si osservano de' noduletti grossi quanto un lupino e anco di più, duri, isolati, senza alcuna reazione infiammatoria all'intorno.

Io ho estirpato dopo 10, 20, 30, 40 e 50 giorni, ogni volta, una mammella con quei noduli tanto per istudiarne le alterazioni ad epoca diversa dall'inoculazione. Finora posso dire che forme blastomicetiche io ho riscontrate soltanto nella prima mammella; che quei noduli duri, isolati sono delle vere ghiandole linfatiche ingrossate ma che esistono normalmente in quella località, e tutto ciò che si osserva, nella glandola mammaria, depone non per un processo neoplastico, ma infiammatorio.

Io seguiterò ad estirpare di dieci in dieci giorni le mam-

melle inoculate per istudiarne le alterazioni; ma alcune le lascerò in sito, per vedere se mai, col tempo tutto non abbia a tornare al normale. Poichè, quando questo avvenisse, quel processo dovrebbe dichiararsi, senza discussione, di natura semplicemente infiammatoria.

Poichè, in questi miei esperimenti, io sono molto preoccupato di ciò che successe a Trasbot, il quale, avendo innestato ad una cagna de' pezzi di un cancro di un'altra cagna, dopo tre mesi fu sul punto di pubblicare, sull'autorità di Chauveau, che l'innesto era riescito, perchè sul luogo si era prodotto un nodulo, duro, isolato, ecc. Senonchè egli volle aspettare ancora del tempo, e gliene venne—come egli dice – bene, poichè quel nodulo, poco a poco, si riassorbì completamente, ed all'autossia della cagna, sacrificata un anno dopo, non si riscontrò, in nessun punto, nulla che avesse potuto far pensare a neoplasia.

Dall'Istituto anatomo-patologico, 26 maggio 1895.